

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-101262  
(43)Date of publication of application : 15.04.1997

(51)Int.Cl.

G01N 21/78  
G09K 11/06  
G01N 31/00  
G01N 31/22

(21)Application number : 08-094410

(22)Date of filing : 16.04.1996

(71)Applicant : DAKUBU SALIFU

(72)Inventor : DAKUBU SALIFU

(30)Priority

Priority number : 86 8602304 Priority date : 30.01.1986 Priority country : GB

(54) METHOD FOR DETECTING QUANTITY OF SPECIFIED COMPONENT SELECTED FROM AMONG AMINES AND ALDEHYDES

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To detect the quantity of amines and aldehydes in a sample with high sensitivity by causing reaction of  $\beta$ -diketone, aldehyde and amine to produce a cyclic dihydropyridine condensate and chelate-bonding the condensate to lanthanoid ions.  
SOLUTION: When a specific component selected from amines or aldehydes in a sample,  $\beta$ -diketone are reacted with, when a specific component are amines, a complementary reagent of aldehyde, and they are reacted with, when they are aldehydes, a complementary reagent of amine to produce a cyclic dihydropyridine condensate. The condensate is brought into contact with lanthanoid metal ions to produce a chelate with lanthanoids. Subsequently, long duration fluorescence of chelated lanthanoid metal ion is measured. Consequently, the quantity of amine or aldehyde in sample can be detected with high sensitivity.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 16.04.1996

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration] 2691398

[Number of appeal against examiner's decision of rejection] 05.09.1997

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C): 1998,2000 Japanese Patent Office

BEST AVAILABLE COPY

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-101262

(43) 公開日 平成9年(1997)4月15日

(51) IntCl.

G 0 1 N 21/78

C 0 9 K 11/06

G 0 1 N 31/00

31/22

識別記号

庁内整理番号

9280-4H

1 2 4

F I

G 0 1 N 21/78

C 0 9 K 11/06

G 0 1 N 31/00

31/22

技術表示箇所

C

Z

V

1 2 4

審査請求 有 発明の数 1 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願平8-94410  
 (52) 分割の表示 特願昭62-501320の分割  
 (22) 出願日 昭和62年(1987)1月30日

(31) 優先権主張番号 8 6 0 2 3 0 4  
 (32) 優先日 1986年1月30日  
 (33) 優先権主張国 イギリス (GB)

(71) 出願人 586052589

サリフ ダクブ

アメリカ合衆国 01907 マサチューセッ  
 ツ州ウインチェスター パークアベニュー  
 10

(72) 発明者 サリフ ダクブ

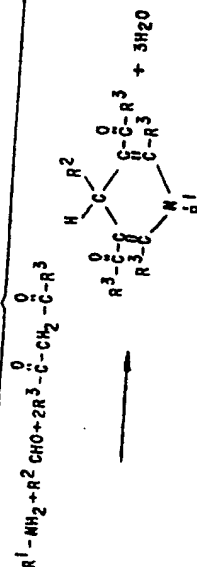
アメリカ合衆国 01907 マサチューセッ  
 ツ州ウインチェスター パークアベニュー  
 10

(74) 代理人 弁理士 廣江 武典

(54) 【発明の名称】 アミン類とアルデヒド類とから選択された特定成分量を検出する方法  
 (57) 【要約】

【課題】  $\beta$ -ジケトン、アルデヒド、アミンを反応させることによりジヒドロピリジン縮合物質を生成し、アミン、アルデヒド物質を高感度に検出する方法を提供すること。

【解決手段】 サンプル中のアルデヒドまたはアミンと、 $\beta$ -ジケトン基と、アルデヒドまたはアミンからなる相補的試薬とを反応させ、環式ジヒドロピリジン縮合物を生成させるステップと、環式ジヒドロピリジン縮合物とのキレート物を生成させるランタニド金属イオンを接触させるステップと、キレート化されたランタニド金属イオンの持続性の高い蛍光を計測し、前記サンプル内に存在する特定成分量を決定するステップとからなるサンプル内のアミン類とアルデヒド類とから選択された特定成分量を検出する方法。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 サンプル内のアミン類とアルデヒド類とから選択された特定成分量を検出する方法であって、

(a) 該サンプルを (i)  $\beta$ -ジケトン基と、(ii)

前記特定成分がアルデヒドであるときアミンであり、前記特定成分がアミンであるときアルデヒドである相補的試薬であって、前記 $\beta$ -ジケトン基と該相補的試薬とは前記サンプル内に存在するいかなる特定成分とも反応し、環式ジヒドロビリジン縮合生成物を生成させる相補的試薬と、(iii) ランタニド金属イオンであって、該イオンによって、存在するいかなる環式ジヒドロビリジン縮合生成物にもそのランタニドとのキレートを生じさせるランタニド金属イオンと、

接触させるステップと、

(b) いかなるキレート化されたランタニド金属イオンの持続性の高い蛍光をも計測し、前記サンプル内に存在する特定成分量を決定するステップと、を含むことを特徴とする検出方法。

【請求項2】 前記持続性の高い蛍光は、フルオロメータで計測されることを特徴とする請求項1記載の検出方法。

【請求項3】 前記特定成分はアミンであり、前記相補的試薬は、キレート化によりランタニド金属イオンをキャリアーする(carrying)キレート化作用を有するアルデヒドであることを特徴とする請求項1又は2記載の検出方法。

【請求項4】 前記特定成分は、アルデヒドであり、前記相補的試薬はアミンであり、キレート化によりランタニド金属イオンをキャリアーすることを特徴とする請求項1又は2記載の検出方法。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、 $\beta$ -ジケトン、アルデヒド、アミンを反応させることによりジヒドロビリジン縮合物質を生成することに着目し、アミン、アルデヒド物質を高感度に検出する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 450nm以下の太陽スペクトル部分は、光電池によって電気に変更され利用されることは、殆ど或いは全くといっていいほど不可能であった。しかしながら、この領域に属する太陽スペクトルは、地上表面や宇宙空間においてエネルギーが豊富な高エネルギー領域である。このことはジョセフ A. マーリガンによって、マサチューセッツ州、ケンブリッジ在のMIT(マサチューセッツ工科大学)出版会の1975年発行「太陽光線から電気を：光起電学により太陽光線を転換する可能性」に詳細に記述されている。プラスチック又はガラス板に色付塗装を施した発光性太陽熱集積器(LSC)を用いてこの問題点を解決せんとする試みが行われた。提案された色付塗装は弱い金属キレートである。例えば、19

84年10月発行の「英国における化学」914～917頁において、M. S. クックとA. J. トムソンは、2, 2'-ビビリジン又は1, 10-フェナントロリンを持つルテニウム(II)錯体を提案している。残念ながら、これらの物質は長時間に互る光に対し安全性を有しないことが記載されている。この問題点は、プラスチック又はガラスにおける希薄溶液状態において、1:3の比率で双方のキレートに金属を結合させる故、光に対し安定性が悪いことによるものである。そのため、ストーク転換が大きく光に対し安定性の高いフルオルファーが必要である。

【0003】アルデヒド( $R^1-CHO$ )、アミン( $R^2-NH_2$ )、 $\beta$ -ジケトン( $R^3COCH_2COR^4$ ) (ここで、 $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ は任意の有機基であり $R^1$ と $R^2$ は水素でも良い。)が反応を起こすと、図1に示すようなジヒドロビリジン縮合物質を形成することは米国特許3,956,314号や国際特許出願PCT/GB85/00337号により知られている。この反応は弱酸性pH(5.5-6.5)と緩やかな温度上昇(30-80°C)において実行されることが好ましい。この場合反応はアルデヒド類、アミン類、 $\beta$ -ジケトン類の官能基構造に起因するものであり、炭素骨格部分 $R^1 \sim R^4$ の特性によって変化するものではない。それゆえこの反応は種々多様なアルデヒド類、アミン類、 $\beta$ -ジケトン類を用いて行うことが可能である。この $\beta$ -ジケトン類の例としては、米国特許4,374,120号に記載されている $\beta$ -ジケトン類の他にもトリフルオルアセチルアセトン、テノイルトリフルオルアセトン、ペンゾイル基、 $\alpha$ - $\beta$ -ナフトイル基、トリフルオルアセトン等がある。その他の利用可能な $\beta$ -ジケトン類にはカルボキシ置換基を有する $\beta$ -ジケトン類がある。

【0004】ナッシュによれば、(1953年発行の雑誌「生化学」NO.55第416～421頁記載)、ジヒドロビリジン縮合物質は4の位置にエノールを形成することが可能であり、この4の位置部分にキレート型により金属イオンと結合している。キレート金属がランタニド金属イオン、特にEu(III)又はTb(III)だけでなくさらにSm(III)又はDy(III)であるのならば、金属イオンと縮合物質はアクセプター・ドナー対としての関係を保って存在し、縮合物質はキレート発色団として作用し、物質特有の吸収ピークにおいて励起放射線を吸収してエネルギー移動によりランタニド金属イオンの共鳴蛍光を生じる。これらの蛍光物質における特性は国際特許出願PCT/GB85/00337号によって認められるものであり、X線蛍光免疫学に利用されるランタニドイオン蛍光標識を作るのに用いられる。キレート縮合物質のこの重要な特性は種々の用途に利用され、本発明はその利用に関するものである。縮合物質の生成のために上述したような適切な吸収特性とドナー特性を有し、更にランタニド金属イオンと力学的にも安定した1:1のキレートを形成するものであるならば、一様に波長転換をするという同様の目的を果たすも

のである。上述したキレート物質の分類とそのキレート物質の生成方法はヨーロッパ特許番号0,195,413号に開示されている。Eu(Ⅱ)、Sm(Ⅱ)、Dy(Ⅱ)を蛍光させるために量子収量的に良好な効率を有するこのキレートは、図3に示すように主な放射線波長帯域として好ましく、それらのイオンは光電池の通常部分で利用されることが可能である。CdSセルを除けば、上記以外のよく利用されている光起電物質の吸収限界は800nm以上である。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】光電池とジヒドロビリジン縮合物質に関して行われた研究に次いで、化学物質の検出のため蛍光分析方法が利用された。これらの検出システムの感度質の向上は、従来から用いられた蛍光物質が殆ど有機物質と結びつくという事実により妨げられてきた。例えば、ホルムアルデヒドを利用して決定する高感度分析処理装置は生物体機能や大気汚染の研究に利用するのに有効である。しよ糖、ヒドロキシアミノ酸、メタノール、ギ酸等の生体物質の検出は酸化や還元によって最初にホルムアルデヒドに変化されるのを検出することにより行われた。更に、アミンの検出や判定、特にアミン酸やプロテイン中のアミンの検出や判定は生化学研究上重要である。クロマトグラフィーにおいては、微量量を迅速に検出することが重要である。

【0006】そこで、本発明の目的は従来用いられたフルオルファーのS/N比を高めることにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明は、持続性の高い蛍光性と広いストーク転換が、縮合物質とともに生成されるランタニドイオンキレートと関連していることを発見したものである。本発明はアミン、アルデヒドの検出のためにランタニドイオンとキレート結合するジヒドロビリジン縮合物質類の混合物を利用するものである。上記ジヒドロビリジン混合物は、 $\beta$ -ジケトン、アルデヒド、アミンから構成される。本発明は、持続性の高い蛍光物質と縮合物質生成の際に生成されるランタニドイオンキレートフルオルファーと広く関連するストーク転換を開拓したものである。

【0008】具体的には、請求項1に記載の発明は、

「サンプル内のアミン類とアルデヒド類とから選択された特定成分量を検出する方法であって、

(a) 該サンプルを (i)  $\beta$ -ジケトン基と、(ii)

前記特定成分がアルデヒドであるときアミンであり、前記特定成分がアミンであるときアルデヒドである相補的試薬であって、前記 $\beta$ -ジケトン基と該相補的試薬とは前記サンプル内に存在するいかなる特定成分とも反応し、環式ジヒドロビリジン縮合生成物を生成させる相補的試薬と、(iii) ランタニド金属イオンであって、該イオンによって、存在するいかなる環式ジヒドロビリジン縮合生成物にもそのランタニドとのキレートを生成させるランタニド金属イオンと、接触させるステップと、

(b) いかなるキレート化されたランタニド金属イオンの持続性の高い蛍光をも計測し、前記サンプル内に存在する特定成分量を決定するステップと、を含むことを特徴とする検出方法。」である。

【0009】請求項2に記載の発明は、「前記持続性の高い蛍光は、フルオロメータで計測されることを特徴とする請求項1記載の検出方法。」である。請求項3に記載の発明は、「前記特定成分はアミンであり、前記相補的試薬は、キレート化によりランタニド金属イオンをキャリアーする(carrying)キレート化作用を有するアルデヒドであることを特徴とする請求項1又は2記載の検出方法。」である。

【0010】請求項4に記載の発明は、「前記特定成分は、アルデヒドであり、前記相補的試薬はアミンであり、キレート化によりランタニド金属イオンをキャリアーすることを特徴とする請求項1又は2記載の検出方法。」である。

【0011】

【発明の実施の形態】

(作用)上記構成により、アルデヒドまたはアミンの検出に際してランタニドイオンのキレートを蛍光源として利用することにより、従来利用されてきたフルオルファー等よりもS/N比において大きな改良がもたらされる。

【0012】

【実施例】次に、本発明について、図面に示した実施例に従って詳細に説明する。図1は、ジヒドロビリジン縮合反応を表す化学式図、図2はジヒドロビリジン縮合物質とキレート結合をしているランタニド金属イオンを含むコーティングを有する光電装置の概略構成図である。図3は、主なランタニドイオンの放射ラインを示す表であり、図4は溶解性が高く特別な配列能力を有する変性分子テノイルトリフルオールアセトンを表し、図5はキレートアルデヒドの一例とその製造方法を表す。図6は、放射線周波数帯域613nmを有するEu(Ⅱ)がキレート結合する図4に示す $\beta$ -ジケトンの励起スペクトルを表し、図7は図4に示す $\beta$ -ジケトンと、発癌性抗原(CEA)と抗原抗体反応を起こすマウスモノクローラル抗体を含むアミンと重合体の例としてのキレートアルデヒドにより形成されるジヒドロビリジン縮合物質の励起スペクトルを表し、図8は、Eu(Ⅱ)とキレート結合して多重共有結合をする図4に示す $\beta$ -ジケトンの励起スペクトルを表し、図9は、多重共有結合をする $\beta$ -ジケトンと、図5に示すキレートアルデヒドと、抗CEAモノクローラル抗体により形成される縮合物質の励起スペクトルを表す図であり、ここにおいてEu(Ⅱ)の放射線波長帯域は613nmであり、第10図は多重共有結合をする $\beta$ -ジケトンと、ホルムアルデヒドと、抗CEAモノクローラル抗体による縮合物質の励起スペクトルを表しここにおいてEu(Ⅱ)の放射線数帯域は613nmである。

【0013】(実施例)まず、本発明に関連するジヒドロピリジン縮合物質の概略について以下に説明する。本発明の縮合物質の特性は、波長転換物質を製造するのにも用いられる。上述する波長転換物質は、蛍光ランタニド属金属イオンによるキレート生成物と、 $\text{NH}_2$ -ベアリング試薬、 $\beta$ -ジケトンベアリング試薬、アルデヒドベアリング試薬等の試薬を有し、かつ上記試薬のうちいずれか1つの試薬が重合体であるジヒドロピリジン縮合生成物を形成する個体となり構成される。この波長転換生成物は、ジヒドロピリジン縮合生成物の励起放射線波長帯域の吸収最大のところでエネルギーを吸収するものであり、その金属イオンキレートに相当する特有の波長でエネルギーの放射を行う。

【0014】従来から $\text{NH}_2$ -ベアリング試薬は重合体であった。ポリエチレニミンは上記の重合体の一例である。代わりにアルデヒドベアリング試薬が重合体であってもよい。従来の光電池の構成部分として用いられる既存の重合体類は、ジヒドロピリジン縮合生成物を生成するために他の試薬と反応させる前に、アミノ基、アルデヒド基、 $\beta$ -ジケトン基などの合併したものに変換される。上述のような重合体は1975年、マサチューセッツ州、ケンブリッジ在のマサチューセッツ工科大学(MIT)出版会発行、S. A. マーリガン著の「太陽光線から電気を：光起電学により太陽光線を変更する可能性」に記載されているポリイミドであり、ポリイミドはCdS光電池と共に用いられる。

【0015】波長転換に使用する物質は、それ自体で波長転換を行うのに利用価値の大きい透明な重合体物質を形成しなければ、光電池と共に利用されるのに適するポリスチレン、ポリプロピレン、及び数種の共重合体のガラス又はプラスチックに分散させても良い。その結果生成された物質はシリコンの片面上か電池に固定されるか、発光性の太陽光集積器(LSC)の一部として固定されても良い。

【0016】この発光性の太陽光集積器は周波数280-460nmの波長の太陽スペクトル中の高エネルギー領域に該当する太陽エネルギーを吸収する。このエネルギー領域は通常従来の光電池には利用不可能であった。上記発光性の太陽熱集積器は540-650nm領域に属するエネルギーを放出し、この領域に属するエネルギーはシリコン及びその他の光電池及び光電池装置により一層利用価値の大きいものである。発光性太陽光集積器の更に詳細な説明は、M. S. クックとA. J. トムソンによる文献に記載されている。本発明に特有の縮合物質を利用しても同様な構成が得られる。

【0017】上記したように、縮合物質のために適切な吸収力とドナー特性を有し、更にランタニド金属イオンとともに力学上安定した1:1のキレートを形成することができるキレート物質であれば、いかなるキレート物質でも波長転換をするという同様の目的を果すものであ

る。上記キレートの種類とその製造方法はヨーロッパ特許0,195,413号に開示されている。これらのイオンの主な放射線波長帯域は光電池の通常部分への利用価値が高いので、Eu(=)、Sm(=)、Dy(=)の蛍光伝達に効率の良い量子収量の効率を有するキレートが好ましい。CdS電池を除いては、殆どの他の起電物質の吸収限界は800nmである。

【0018】この縮合物質を生成させることは、金属の存在下でより都合の良い形態、つまり新しい電子的、電氣的、及び化学的特性を有する可能性のある形態で提供することにある。縮合反応において幅広く各種のアミン類及びアルデヒド類を利用することが可能なので、これらの物質の選択はキレート結合に必要な金属によって決定される。金属ベアリング縮合物質が重合体中又は高分子中へ分散の形で形成される場合には、金属は強いキレート結合により力学的にも安定した形態で存在する。それ故、このキレート結合による方法では1つ又はそれ以上の薄い金属箔を提供することが可能となる。

【0019】図2に示す光電気装置は、コーティングを施した重合体(2)を表面に有する光電池(1)から形成されている。コーティングを施した重合体(2)は持続性の高い光安定性を有する。コーティングを施した重合体(2)は、ランタニド金属イオンとキレート結合をしたジヒドロピリジン縮合物質により構成される。上記コーティングを施した重合体は図1に示すような反応体により作られ、上述した条件下において反応を示す。この目的のために提供された $\beta$ -ジケトンは図4に示すような改良ティノイルトリフルオロアセトンであり、この改良ティノイルトリフルオロアセトンは溶解性を高め、更に最終的な生成物質であるジヒドロピリジン混合物中でランタニド金属にキレート結合をさせるための安定性を増加させる。この $\beta$ -ジケトンは特に同様の安定性を有している。

【0020】キレート状のアルデヒドとその製造方法の例は図5に示す。図3に示すように、縮合物質とキレート結合をするランタニドイオンは光電池により最も集積し易い範囲に属するエネルギーを放射する。図7に示すようにコーティングは太陽スペクトル(280-460nm)の高エネルギー領域からのエネルギーを吸収する。コーティングを施した重合体は透明物質(3)上で吸収され光電池表面部分に載置される。図2に全体図を示す装置は太陽光線を吸収してそのエネルギーを電気に変換するものである。

【0021】以下に利用される試薬は図示参照のために用いられるものであり本発明の要旨を何ら限定するものではない。

(1)アミノ基と、発癌性抗原(CEA)と抗原抗体反応を起こすマウスモノクローナル抗体を有する商業的利用価値の高い重合体を約10mg/mlの濃度となるように溶解したもの。

(2) はじめ、図5に示す37~40%のアルデヒドを重量体積比1:1000の比となるように溶解したもので $1.4 \times 10^{-3}$ モル/lの濃度を有するもの。

(3) メタノール中に濃度160ミリモルとなるように溶解された図4に示す改良 $\beta$ -ジケトン貯蔵溶液。

【0022】(実験例) PH5.7の酢酸緩衝液(0.2モル)中でマウスモノクローナル抗体溶液(抗体 $2.8 \times 10^{-8}$ モル)400 $\mu$ lを37°Cで約1時間、そして、アルデヒド希薄溶液(アルデヒド $2.7 \times 10^{-7}$ モル)200 $\mu$ lと $\beta$ -ジケトン溶液( $\beta$ -ジケトン $5.4 \times 10^{-7}$ モル)4 $\mu$ lで培養することによりコーティングをする。反応物質は最初反応を起こしていない小さな分子を取り除くため、酢酸緩衝液により隔膜分離され、次にキレート物質(フルオルファー)生成のために濃度 $10^{-7}$ モルのEu(III)イオンを含む酢酸緩衝液で隔膜分離を行い、最後に過剰なEu(III)イオンを取り除くために酢酸緩衝液で隔膜分離を行う。

【0023】Eu(III)とキレート結合をしたジヒドロビリジジン縮合物質は物理的な吸着により薄い透明のポリスチレンのシート上にコーティングされる。このコーティングがされたポリスチレンのシートはラジオジャック型光電池の表面に載置される。光誘導装置は太陽光線にさらされる。電流値が計測され、この電流値は同じ条件下でポリスチレンシート表面でラジオジャック型光電池により監視された電気出力と比較される。

【0024】本発明の第2実施例によれば、ジヒドロビリジジン縮合物質はアミン類、アルデヒド類の検出をするための手段として利用される。この第2実施例による検出装置は高性能液体クロマトグラフィー(HPLC)にとくに利用される。それゆえ、移動相のアミンを検出する過程は、キレート機能を有しかつランタニド金属イオンを含む $\beta$ -ジケトンとアルデヒドとをキレート結合により物質の流れと結合させるステップと、ジヒドロビリジジン縮合物質の出現最大のところにおいて蛍光性が存在しているか否かを検出するステップとを有する。同様にして移動相中でアルデヒドを検出する過程は、キレート機能を有しかつランタニド金属イオンを含む $\beta$ -ジケトンとアルデヒドをキレート結合により物質の流れと結合させるステップと、ジヒドロビリジジン縮合物質の出現最大のところにおいて蛍光性が存在しているか否かを検出するステップとを有する。

【0025】アミンと結合したキレート物質は、例え

ば、ヨーロッパ特許番号0,195,413号で開示されている様に、良好なドナー特性の他に金属イオンをキレート結合させるためにも高度に安定した定数を有するものである。ランタニドイオンの蛍光性を安定、増大させるため、例えばトリオクチルホスフィンオキサライド等の助剤を更に加えることにより一層高い効果が得られる。検出は縮合物質の生成を早めるために結合は適切な高い温度において実行されることが好ましく、例えばHPLC中のサンプルの分離後処理をして実行されるのが好ましい。

【0026】上述した検出方法は、ランタニドイオン蛍光の助けにより高感度に達成することが可能となり、特に時間分散原理の下では優れている。ジヒドロビリジジン縮合物質の最大吸収値は勿論 $\beta$ -ジケトン開始物質の吸収最大値とは異なっており、もしそうでない場合は分離するためのステップが必要である。

【0027】画期的なアミン検出システムの一例は $\beta$ -ジケトンと、ランタニド金属イオンとキレート化したアルデヒドとを未知の試料溶液に結合させるステップを有する。図7に示す様にジヒドロビリジジン縮合物質の出現最大のところにおける蛍光物質の検出はアミンの存在を示すものである。本発明の画期的なアルデヒド検出システムの一例は、アルデヒド反応体がキレート化によりランタニド金属イオンを有するアミンと置換しない限り、上述のアミン検出システムと同様な原理にもとづいて行われる。

【0028】本発明を以下の例により更に詳細に説明する。

(実験例1) 各々異った波長転換装置がシリコン光電池の前面に置かれた後、太陽光線にさらされた。光電池からの光出力の電圧の計測が行われ、更にこの光出力は電気モーターに示された。この実験の結果は以下の表1に示されている。フルオルファーが光電池の性能を高める段階が百分率を用いて記録された。シリコン光電池はラジオジャック型277-1201号が用いられた。各波長転換装置は各々ポリエチレン製のフィルム基底部を有していた。この波長変換装置は本明細書に詳述した種々のフルオルファーによるコーティングが施されていた。ジヒドロビリジジン縮合物質は表1においてDHPと省略されている。

【0029】

表 1

構 成	モーター電圧	上昇 %
フィルムのみ	0.411	--
フィルムと DHP Tb <sup>3+</sup>	0.422	2.68
フィルムと DHP Eu <sup>3+</sup>	0.445	8.27

【0030】(実験例2)本例はアミン検出システムを示すものである。プロテインは末端にアミンを有することを特徴とする。溶液中でのプロテインの濃度は、ジヒドロピリジン縮合物質と関連するEu(Ⅲ)イオン蛍光物

質を計測することによって決定された。Eu(Ⅲ)イオンは縮合物質生成により導入された新しい励起波長で蛍光を発した。

【0031】

TBA-TFA : PH5.5の0.1モル酢酸緩衝液中において  
0.5×10<sup>-3</sup>モル  
キレートアルデヒド : PH5.5の0.1モル酢酸緩衝液中において  
0.37×10<sup>-3</sup>モル  
抗体溶液 : PH5.5の0.1モル酢酸緩衝液中において  
徐々に薄められる。

【0032】本例で用いられた手順は以下の通りであった。0.5mlの(Euを含む)各酢酸とβ-ジケントンの溶液が各々異なった濃度の1mlの整数倍溶液に加えられた。溶液は37℃において1時間培養され、室温に

おいて冷却された。蛍光物質の量は以下の条件のもとで遅延蛍光モードにおいて、パーキン・エルマー社製LS5分光光度計により測定された。

【0033】

遅れ 0.05m秒  
ゲート 0.05m秒  
固定スケール 2.0  
スリット EX 15; EM 20; EX 277nm EM 615nm

【0034】この実験例の結果を表2に示す。

表 2

プロテイン濃度 (mg/ml)	モ      ル	蛍      光
0.87	5.7 × 10 <sup>-6</sup>	6.8
0.22	1.4 × 10 <sup>-6</sup>	1.8
0.05	0.36	9
0		4

小分子子を分離した後、タイムゲート分光光度計を用いて同じサンプルの光子を数えた。その測定値を表3に示す。表1に示されたデータは補間法を用いて未知のプロ

テイン濃度を決定するための検量線を構成するのに用いられる。

【0035】

表 3

プロテイン 濃度 (mg/ml)	測 定 値
0.87	$2.2 \times 10^4$
0.22	$5.5 \times 10^4$
0.05	$1.4 \times 10^4$
0.01	$3.0 \times 10^4$
0.003	$8.6 \times 10^4$
0	$2.0 \times 10^4$

【0036】(実施例3)本例はアルデヒド検出システムを示す。溶液中のホルムアルデヒド・アルデヒド濃度は、例2と同様の遅延タイムゲート・Eu(=)蛍光測定器を用いて縮合物質の生成方法により求められる。

【0037】本例に用いられる物質は以下の通りであった。

(1) PH5.5の0.1モル酢酸緩衝液において化学量子理論値のEu(=)を含有する濃度 $1 \times 10^{-3}$ モルのβ-ジケトン(TBA-TFA)。

(2) PH5.5の0.1モル酢酸緩衝液において濃度2.0モルのアミン-アンモニウム。(3) PH5.5の0.1モル酢酸溶液で希薄化されたホルムアルデヒド溶液。貯蔵溶液は1:1の比率でアンモニウム酢酸溶液と混合されたβ-ジケトン溶液から構成される。

【0038】本例で使用される手順は以下の通りであった。β-ジケトンとアンモニウム酢酸の1ml貯蔵用混

合溶液が1ml整数倍希薄溶液に加えられた。上記溶液は37℃で1時間培養が行われ、温室において冷却された。溶液の蛍光性はパーキン・エルマー社製分光光度計により分離されることなしに測定された。本例の結果は結果は以下の通りであった。励起スペクトルは2つのピーク値を有することはない。励起スペクトルはβ-ジケトンに相当する同一のピーク値を有する。抗体物質のピーク値が280nmであるのは抗体に起因するものである。未反応β-ジケトン-Eu(=)錯塩のノイズをなくするために検出器が必要となる。その結果生成される生成物の量は下記表4に示すように濃度が上昇するにもかかわらず減少する。例2に示したと同様に構成された検量線がホルムアルデヒドの濃度を決定するために用いることが可能である。

【0039】



表 4

ホルムアルデヒド濃度 (モル)	生成物 Bx350 Em615 基準量	測定値
$10^{-3}$	168	$8.6 \times 10^4$
$10^{-4}$	61	$3.2 \times 10^4$
$10^{-5}$	204	$3.8 \times 10^4$
$10^{-6}$	251	$4.4 \times 10^4$
$10^{-7}$	256	$4.5 \times 10^4$
空白	266	$4.6 \times 10^4$

本発明はその要旨を逸脱しない限り別の形態においても実施することが可能である。それゆえ本実施例は単に図示参照のために用いられたものであり本発明を何ら限定するものではない。本発明の要旨は以下添付の特許請求の範囲により、より一層明確になり、さらに特許請求の範囲は類似するものをすべて含むものである。それゆえ本発明は発明の要旨を逸脱しない限りいかなる形態においても実行できる。

【0040】

【発明の効果】以上、説明したように、本発明は、 $\beta$ -ジケトン、アルデヒド、アミンを反応させることによりジヒドロビリジジ縮合物質を生成し、アミン、アルデヒド物質を高感度に検出する方法を提供することができるという優れた効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【図1】 ジヒドロビリジジ縮合反応を表す化学式図

【図2】 ジヒドロビリジジ縮合物質とキレート結合をしているランタニド金属イオンを含むコーティングを有する光電気装置の概略構成図。

【図3】 主なランタニドイオンの放射ラインを示す表図。

【図4】 溶解性が高く特別な配列能力を有する変性分子テノイルトリフルオールアセトンを表す図。

【図5】 キレートアルデヒドの一例とその製造方法を表す図。

【図6】 放射線周波数帯域613nmを有するEu(III)がキレート結合する図4に示す $\beta$ -ジケトンの励起スペクトルを表す図。

【図7】 図4に示す $\beta$ -ジケトンと、発癌性抗原と抗原抗体反応を起こすマウスモノクローラル抗体を含むアミンと重合体の例としてのキレートアルデヒドにより形成されるジヒドロビリジジ縮合物質の励起スペクトルを表す図。

【図8】 Eu(III)とキレート結合して多重共有結合をする図4に示す $\beta$ -ジケトンの励起スペクトルを表す図。

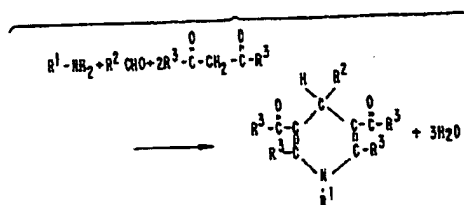
【図9】 多重共有結合をする $\beta$ -ジケトンと、図5に示すキレートアルデヒドと、抗CEAモノクローラル抗体により形成される縮合物質の励起スペクトルを表す図。

【図10】 多重共有結合をする $\beta$ -ジケトンと、ホルムアルデヒドと、抗CEAモノクローラル抗体による縮合物質の励起スペクトルを表す図。

【符号の説明】

- 1 光電池
- 2 重合体
- 3 透明物質

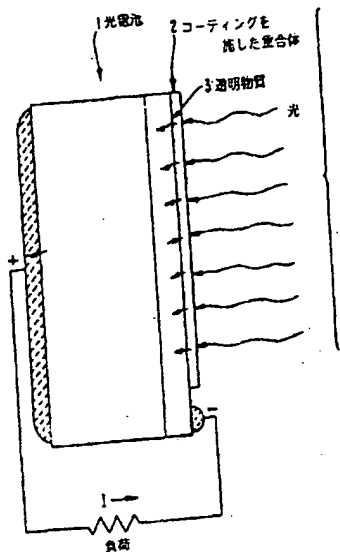
【図1】



【図4】



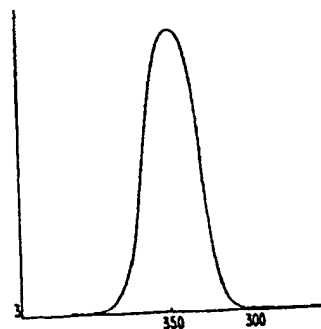
【図2】



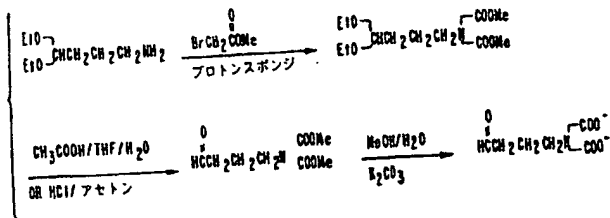
【図3】

ランタニド	遷移	吸収帯(nm)
Eu	$S_{0,0} - T_{f,2}$	615
	$S_{0,4} - T_{f,6}$	490
	$S_{0,4} - T_{f,2}$	650
Sm	$4G_{5/2} - 8F_{9/2}$	650
	$4G_{5/2} - 6H_{9/2}$	640
Dy	$4F_{9/2} - 6H_{13/2}$	580
	$4F_{9/2} - 6H_{5/2}$	540

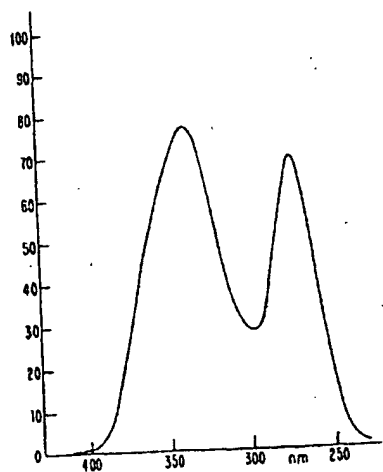
【図6】



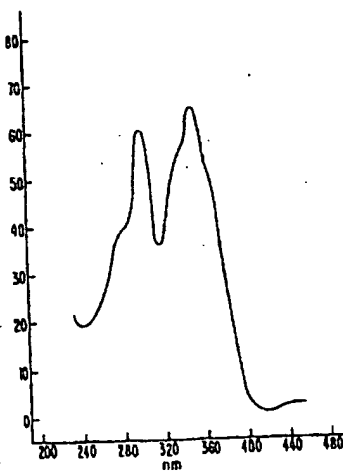
【図5】



【図7】



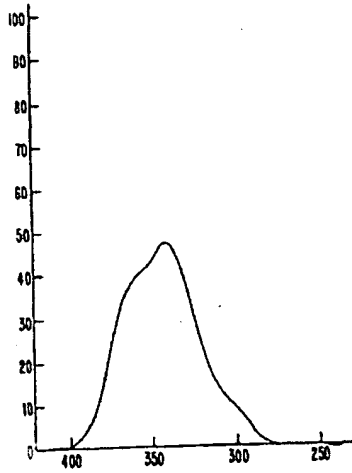
【図8】



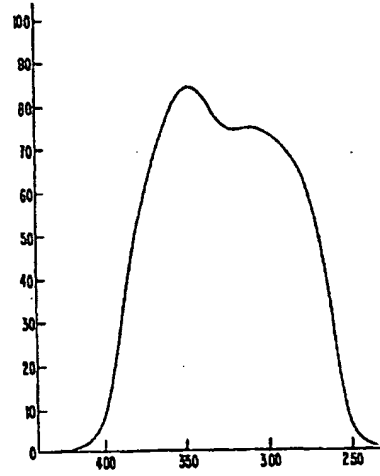
(10)

特開平9-101262

【図9】



【図10】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**